FACULTÉ MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

8

Etude Critique sur la Technique du Test de Thorn

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 8 Juillet 1955

PAR

M. GASTON BIROT

Né le 13 Novembre 1904 à MURVIEL-les-BEZIERS (Hérault)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse

MM. C. DUMAZERT, Président
J. DELPHAUT
Y. DERRIEN
Ch. GREBUS agrégé

Assesseurs

IMPRIMERIE MODERNE
GARDANNE
1957

ETUDE CRITIQUE SUR LE TEST DE THORN

FACULTÉ MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

Etude Critique sur la Technique du Test de Thorn

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 8 Juillet 1955

PAR

M. GASTON BIROT

Né le 13 Novembre 1904 à MURVIEL-les-BEZIERS (Hérault)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse

MM. C. DUMAZERT, Président
J. DELPHAUT
Y. DERRIEN
Ch. GREBUS agrégé

Assesseurs

R.UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

IMPRIMERIE MODERNE
GARDANNE
1967

PERSONNEL ENSEIGNANT

Doyen : G. MORIN — **Assesseur :** J. DELPHAUT

Doyen honoraire : L. IMBERT

Professeurs honoraires : MM. AUDIBERT, BELTRAMI, BREMOND, GABRIEL, HECKENROTH, JOYEUX, OLMER, RIMATTEI, ROCHE, MONGES.

Chargé de cours honoraire : M. TIAN

Secrétaire Principal : J. COMTE — **Bibliothécaire :** Mlle PERRIN

PROFESSEURS

Anatomie	GRISOLI
Anatomie Pathologique	GASTAUT
Bactériologie et Pathologie générale	BRAHIC
Botanique et Cryptogamie	PELLISSIER
Cardiologie clinique et expérimentale	JOUVE
Chimie Médicale	DERRIEN
Chimie Analytique et Hydrologie	ARNOUX
Chimie	DUMAZERT
Clinique Chirurgicale	MOIROUD
Clinique Chirurgicale	CARCASSONNE
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédie	SALMON
Clinique Chirurgicale Thérapeutique et Chirurgie expérimentale	DE VERNEJOUL
Clinique Dermato-syphiligraphique	CHARPY
Clinique Exotique	BLANC
Clinique des Maladies du Système Nerveux	POURSINES
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	POINSO
Clinique Médicale Thérapeutique	OLMER J.
Clinique des Maladies des Voies digestives et de la Nutrition	RECORDIER
Clinique Médicale Infantile	GIRAUD
Clinique Neuro-Chirurgicale	PAILLAS
Clinique Obstétricale et Gynécologique	CHOSSON
Clinique Ophtalmologique	JAYLE

Clinique Urologique	CHAUVIN
Histologie	PICARD
Hygiène et Médecine Préventive	SAUTET
Matière Médicale	BALANSARD
Médecine Légale et Médecine du Travail	MOSINGER
Parasitologie	RANQUE
Pathologie interne	AUDIER
Pathologie chirurgicale	N...
Pharmacologie	MERCIER
Pharmacie Chimique et Toxicologie	VIGNOLI
Pharmacie Galénique	DELPHAUT
Physiologie	MORIN
Physique Médicale	DUBOULOZ
Stomatologie	MARONNEAUD
Thérapeutique	PIERI
Professeur sans chaire	ROUX
»	DONNET

Maîtres de Conférences Agrégés

MM. BERNARD P.
BOURRET
DESPIEDS
DESNATI
GAMBARELLI
GREBUS
LISSITSKY
MERCIER Jacques
MOURGUE
PASTOR
PAYAN
TAMALET

Agrégés en exercice

MM. APPAIX
BERNARD René
CHARPIN
CHAUVIN
CREMIEUX
DEVIN
GRANJON
LAVAL
METRAS
MONGES H.
MOUREN
OLLIVIER
ORSINI
OURGAUD
PAOLI
RAYBAUD
SERMENT

Agrégés libres

MM. BERTHIER
DOR
FIGARELLA
HENRY
IMBERT
LAMY
LENA
VAGUE

Chargés des fonctions de Maîtres de Conférences

Histologie	M. STAHL
Hygiène et Médecine Sociale	M. GEVAUDAN

Lorsque je commençais dans cette Faculté de Marseille mes études de Pharmacie, je ne pensais pas que de si longues années plus tard, je reviendrai ici-même présenter une thèse de Doctorat.

Si j'ai pu mener à bien ce modeste travail je le dois à la bonté, à la patience et aux conseils éclairés de Monsieur le Professeur C. DUMAZERT qui a bien voulu m'accueillir dans son Laboratoire.

Qu'il veuille trouver ici le témoignage de ma profonde gratitude et de mon entier attachement.

A Monsieur le Professeur J. DELPHAUT, j'exprime toute ma respectueuse reconnaissance pour son bienveillant et précieux concours.

A Monsieur le Professeur Y. DERRIEN dont je m'honore d'être l'ami, je tiens à dire toute ma gratitude pour l'obligeance dont il a fait preuve à mon égard.

A Monsieur le Professeur agrégé C. GREBUS, qui a bien voulu faire partie de mon Jury de Thèse, j'adresse mes remerciements. Qu'il soit assuré de ma vive et sincère reconnaissance.

INTRODUCTION

Les progrès récents réalisés dans l'étude des glandes à sécrétion interne, ont mis l'accent sur les relations qui existent entre l'hypophyse et les différentes glandes endocrines. Il est ainsi apparu que l'hypophyse paraît commander la plupart des sécrétions de ces dernières. Dans notre travail, c'est surtout l'interdépendance de l'hypophyse et des sécrétions cortico-surrénaliennes qui a été l'objet de recherches ayant pour but d'étudier les techniques permettant d'apprécier le fonctionnement de la cortico-surrénale.

Dès lors, il nous apparaît indispensable de présenter une mise au point élémentaire relative à la biochimie des hormones stéroïdes, tout en nous efforçant de la relier au fonctionnement de l'hypophyse.

GENERALITES SUR LES HORMONES STEROIDES

Les hormones stéroïdes peuvent être classées selon leur action physiologique en trois grands groupes :

— les hormones mâles ou androgènes,

— les hormones femelles : œstrogènes ou lutéostéroïdes,

— les hormones cortico-surrénaliennes ou corticoïdes.

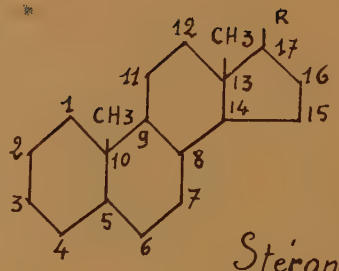
Chimiquement, ces hormones stéroïdes dérivent toutes du diméthyl-cyclo-pentano-phenanthrène et stérane.

Les *hormones œstrogènes* sont toutes des composés phénoliques : œstradiol, œstrone et œstriol.

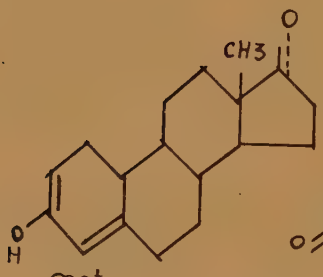
Les lutéostéroïdes sont tous des composés en C_{21}, appartenant à la série normale des stéroïdes.

Les *androgènes* sont des stéroïdes à 19 atomes de carbone ; les plus importants de ces corps sont la testostérone et l'androstérone (Cortex surrénal, testicules).

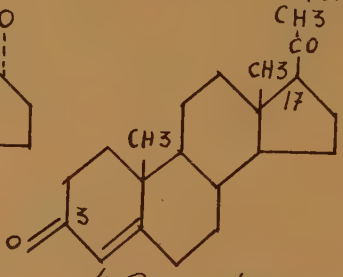
Formule de quelques Stéroïdes énoncés dans le texte.



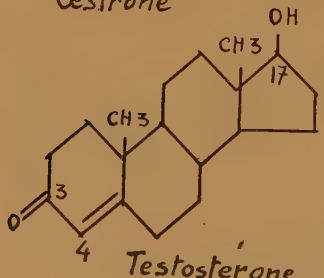
Stérane



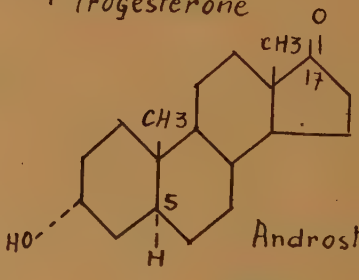
Œstrone



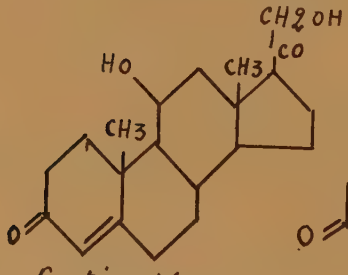
4 Progestérone



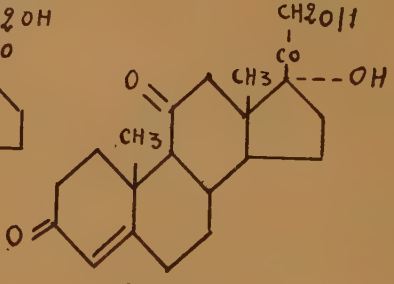
Testostérone



Androstérone



Corticostérone



Cortisone

La testostérone porte un groupement cétonique en position α, β sur le cycle A, ce qui lui confère une grande sensibilité aux alcalis. C'est la Δ 4-androstène-17-ol-3-one.

L'androstérone fait partie de la série allo (A/B trans) des stéroïdes dont le chef de file est le noyau du cholestane, mais ici l'orientation du groupement alcoolique est α et non β. Elle fait partie des trois principaux stéroïdes que l'on considère comme des produits d'excrétion du métabolisme des androgènes. Elle donne une réaction colorée avec le méta-dinitro-benzène en présence de potasse (réaction de Zimmerman) (86) qui permet de doser les 17 ceto-stéroïdes neutres dans l'urine.

Les *corticoïdes* sont tous des stéroïdes à 21 atomes de carbone. Six de ces stéroïdes, extraits des surrénales, produisent les actions physiologiques caractéristiques des extraits totaux de ces glandes.

Le métabolisme (59) des stéroïdes est mal connu ; il semble toutefois que ces hormones soient détruites ou transformées par le foie (60-64-65).

Si on peut classer ces corps selon leur action physiologique, il est beaucoup plus difficile de leur assigner une origine anatomique bien déterminée. En effet, les glandes qui les produisent sous l'action des stimulines hypophysaires ne sont pas, excepté les ovaires, vraiment spécialisées. C'est ainsi que la surrénale et les testicules produisent des œstrogènes. Beall (5) a trouvé de fortes quantités d'œstrogènes dans les testicules de cheval et dans les surrénales de bœuf. Nous signalons qu'une documentation plus ample peut être trouvée dans les ouvrages de Pincus (57) et Houssay (35).

Les androgènes contrôlent le développement du tractus génital mâle et le développement des caractères secondaires qui s'y rattachent.

Les hormones femelles, par suite du caractère complexe de l'organisme qui les sécrète, doivent remplir deux rôles bien différents, œstrogènes et lutéostéroïdes répondent à ce besoin et règlent les processus du cycle menstruel et de la grossesse.

Les corticoïdes ont une action primordiale dans différents métabolismes et dans la régulation de nombreuses fonctions. Ils

régularisent le métabolisme de certains électrolytes (Na, Cl, K) et de l'eau (désoxycorticostérone) et leur élimination. Ils maintiennent constant le volume du sang et la pression artérielle. Certains, comme la cortisone et les dérivés portant une fonction oxygénée en C_{11} règlent le métabolisme des glucides, des protéines et dans certains cas des lipides (production de corps cétoniques). Enfin, les corticoïdes ont une action importante dans les phénomènes de résistance de l'organisme à certains agents physiques ou chimiques (production d'anticorps, anaphylaxie et autres réactions sérologiques). Cette action antigénique des stéroïdes corticoïdes due à la formation d'anticorps (globuline) par destruction secondaire des lymphocytes permet d'étudier l'activité fonctionnelle des glandes surrénales en fonction de la formule leucocytaire. En effet, si le taux des hormones gluco-protidiques du cortex (oxystéroïdes) atteint un niveau anormalement élevé, une éosinopénie titrable apparaît dans les heures qui suivent. Ceci a permis à Thorn (77) et ses Coll. de mettre au point un test qui, après sollicitation spécifique ou non du cortex surrénal, mesure la réponse de cette glande à l'intensité de la diminution du nombre des polynucléaires éosinophiles dans les heures qui suivent (20).

Parmi les facteurs qui influencent la production de corticostéroïdes, nous citerons la stimuline ante-hypophysaire spécifique ou hormone corticotrope, l'adrénaline dont la spécificité est discutée, des produits du métabolisme (adrénochrome), hyperglycémie, hypoglycémie, des facteurs mixtes (agression ou stress).

Dunger (Allemagne (24), proposa en 1910 une méthode de numération directe des polynucléaires éosinophiles avec une dilution éosino-acétone.

Evans, en 1929, ouvre les possibilités d'étude expérimentale des relations hypophyso-surrénales en se servant, comme critère, de l'hypertrophie de la glande surrénale provoquée par l'injection des premiers extraits d'ante hypophyse. La même année Jansion, Hugonot et Sohier signalent une éosinopénie consécutive à l'injection d'adrénaline. Puis Vat Sueda constate une chute éosinophilique après injection d'histamine suivie par une décharge d'adrénaline (Houssay, Molinelli).

En 1937, Aszodi (2) observe une augmentation des polynucléaires éosinophiles consécutive à une hypervitaminose C. En

1942, Adam note que l'adrénaline et l'atropine changent le compte des éosinophiles quand leur nombre est augmenté par un état allergique. Pendant que Dalton et Selye observent une diminution de polynucléaires éosinophiles pendant « la réaction d'alarme ». Enfin, en 1947. Hills, Forsham, Finch (33) utilisent l'hormone corticotrope et observent une éosinopénie importante, une lymphopénie et une polynucléose neutrophile.

En 1948, Thorn, Forsham, Hills, Prunty, Recant (79) mettent l'accent sur la fidélité de l'effet éosinopéniant et proposent la numération des polynucléaires éosinophiles avant et quatre heures après l'injection d'hormone corticotrope (test de Thorn n° 1) ou d'adrénaline (test de Thorn n° 2).

La variation est calculée en pour cent et le sens de la variation est exprimé par les signes plus ou moins, selon qu'il y a augmentation ou diminution (pour de plus amples détails, nous renvoyons le lecteur à la thèse d'André Bezon) (71).

On sait peu de choses sur la formule chimique de l'hormone corticotrope ; ses propriétés hormonales sembleraient liées à une fraction peptidique des extraits protidiques de l'hypophyse antérieure (Morris). Outre son pouvoir de contrôle sur la maturité et la capacité de mitose des lymphocytes (Robertson (61), l'hormone corticotrope exalterait toutes les fonctions cortico-surrénaliennes, diminuerait la teneur en acide ascorbique du cortex surrénal (Kutchell et Mitchell (41), Sayers (68), provoquerait une alcalose sanguine, un catabolisme exagéré, une rétention hydrosaline, une augmentation de l'élimination des corticostéroïdes et des 17 cétostéroïdes.

L'augmentation de l'élimination des 17 cétostéroïdes a servi de base à de nombreux travaux (49-54) ; on a pu ainsi constater que les variations subies par le taux des 17 cétostéroïdes étaient proportionnelles à la quantité d'hormone corticotrope injectée (66). Les méthodes employées pour la détermination du taux des 17 cétostéroïdes peuvent être chromatographiques (43-50) ou colorimétriques et sont basées sur la réaction de Zimmerman (15-38). Parmi les méthodes colorimétriques, celle que le docteur Valensi (22) a mise au point, dans le laboratoire de Chimie (Faculté de Médecine de Marseille), présente l'avantage d'utiliser une prise d'essai de 5 centimètres cubes de sang ; cette réduction de la prise

d'essai permet d'effectuer des dosages des 17-céto-stéroïdes du sérum sanguin (81) dont on ne connaissait l'existence que par des essais biologiques sur la crête de chapon par exemple (45).

A la lumière des nombreuses analyses effectuées sur des sérums humains, il ressort que la 17-cétostéroïdémie est particulièrement constante ; chez l'homme normal, son taux varie entre 9,5 mg. et 9,8 mg., et entre 8,4 mg. et 8,8 mg. chez la femme. On a pu également constater que la 17-cétostéroïdémie subissait de grandes variations au cours de maladies graves, infectieuses ou endocrinologiques, et pouvait atteindre 5 mg. pour une insuffisance surrénale accompagnée d'impuissance, alors que son taux s'élevait jusqu'à 22 mg. pour un cas d'hirsutisme. La 17-cétostéroïdémie varie aussi sous l'influence de la stimuline corticotrope comme on a pu le voir chez des nourrissons atteints de toxicose et traités par cette hormone (81).

Il ressort que cette brève revue sur la biochimie des 17 cétostéroïdes que la sécrétion de ces corps est soumise à de nombreuses influences en relation avec d'autres hormones et que les variations de l'activité des glandes sexuelles ou cortico-surrénales, posent d'importants problèmes physiologiques et pathophysiologiques. Par ailleurs, on ne peut dissocier les interactions des diverses hormones. Parmi celles-ci, les sécrétions hypophysaires présentent une importance prépondérante dans le cadre de la question qui nous intéresse, puisqu'elles tiennent sous leur dépendance le fonctionnement de la plupart des autres.

RELATIONS ENTRE LES HORMONES STEROIDES ET L'HYPOPHYSE

L'hypophyse, en tant que facteur d'équilibre, joue un rôle primordial dans l'organisme. Si son ablation ne provoque pas une mort foudroyante, on observe toutefois un arrêt de la croissance, des perturbations métaboliques, des transformations plus ou moins grandes des glandes endocrines. Son action sur la croissance serait due à une hormone du lobe antérieur : l'hormone somatotrope. L'action métabolique est le fait non seulement d'hormones spécialisées (hormone diabétogène de Houssay dont l'injection répétée amène les symptômes du diabète, hormone acétonémiante qui transforme les corps gras en corps cétoniques), mais aussi des stimulines anté-hypophysaires. Les principales stimulines anté-hypophysaires sont les hormones corticotrope, thyréotrope, parathyréotrope, thymotrope, pancréatotrope, gonadotrope et la prolactine. Ces stimulines régularisent les diverses fonctions de l'organisme selon un processus réversible. L'hormone anté-hypophysaire excite d'abord la glande correspondante. Celle-ci répond par la production d'hormones qui, à partir d'un taux maximum, vont à leur tour inhiber la production de stimuline hypophysaire. L'hormone thyréotrope par exemple provoque la formation, par le corps thyroïde, de thyroglobuline qui, en retour, inhibe la production de thyrectrophine par l'anté-hypophyse.

Nous citerons seulement les hormones post-hypophysaires, vagopressine, adiurétine et hormone ocytocique.

Nous ne saurions terminer cette rapide revue sans considérer les relations possibles entre les hormones stéroïdes et les sécrétions placentaires.

Le placenta secrète de nombreuses hormones parmi lesquelles les prolans A et B éliminés dans l'urine (réaction de Brouha) dont l'action est superposable aux gonadotrophines A et B. L'hypophysectomie pratiquée au cours de la seconde partie de la grossesse n'interrompt pas celle-ci. Ces prolans disparaissent pendant les préparations des extraits placentaires par suite d'une ébullition. L'introduction en thérapeutique des extraits placentaires dont les indications sont voisines de celles de l'hormone corticotrope. sou-

lève à nouveau la question du rôle hormonal joué par cet organe. Le placenta contient des quantités notables d'œstrogènes. Quant à la présence d'une substance dont l'action est analogue à celle de la corticotrophine, on a observé que l'extrait acétonique d'un placenta de femme enceinte, atteinte de maladie d'Addison, est capable de ramener à l'état normal les surrénales d'un rat hypophysectomisé (JEILER et KNOWLTON, 1950) (39), et que l'animal fécondé supporte bien mieux l'hypophysectomie que l'animal non fécondé (GARDNER et ALLEIN, 1949). On a également observé une amélioration très nette chez la femme enceinte atteinte de polyarthrite (HENCH, 1929) et que les tests de THORN (78) et de SAYERS (69) sont positifs chez les sujets traités par des préparations placentaires. De nombreux cas de rhumatismes, de maladies du collagène, de psoriasis ont été rapportés dans lesquels la grossesse apporte une guérison, quelquefois transitoire, mais parfois aussi, durable.

A côté des hormones d'origine endocrine, il existe des substances hormonales produites par des organes exocrines (glandulaires ou non glandulaires) dont le rôle dans l'équilibre humoral n'est pas négligeable ; nous citerons simplement les principales qui sont : la rénine du rein, les hormones gastro-intestinales dont le principe anti-anémique de Castle, l'histamine, l'acéthylcholine, les hormones hépatiques, surtout le principe anti-anémique de WHIPLE et l'héparine, les facteurs favorisant la cicatrisation des plaies et les anti-hormones.

Nous ne pouvons clore ce bref aperçu sur la physiologie des glandes endocrine sans consacrer au moins quelques lignes au « syndrome général d'adaptation » (71).

SYNDROME GENERAL D'ADAPTATION DE SELYE

L'organisme, grâce au fonctionnement des glandes surrénales, est en mesure de lutter contre toutes les agressions ou stress (infections microbiennes, traumatismes, hémorragies, intoxications, chocs émotionnels...). Si le stress est important, le « syndrome général d'adaptation » comprend trois temps : la réaction d'alarme, la période de résistance, la période d'épuisement. Au cours de ces trois phases, la physiologie des différents systèmes de l'organisme subit de graves perturbations que SELYE (73) dési-

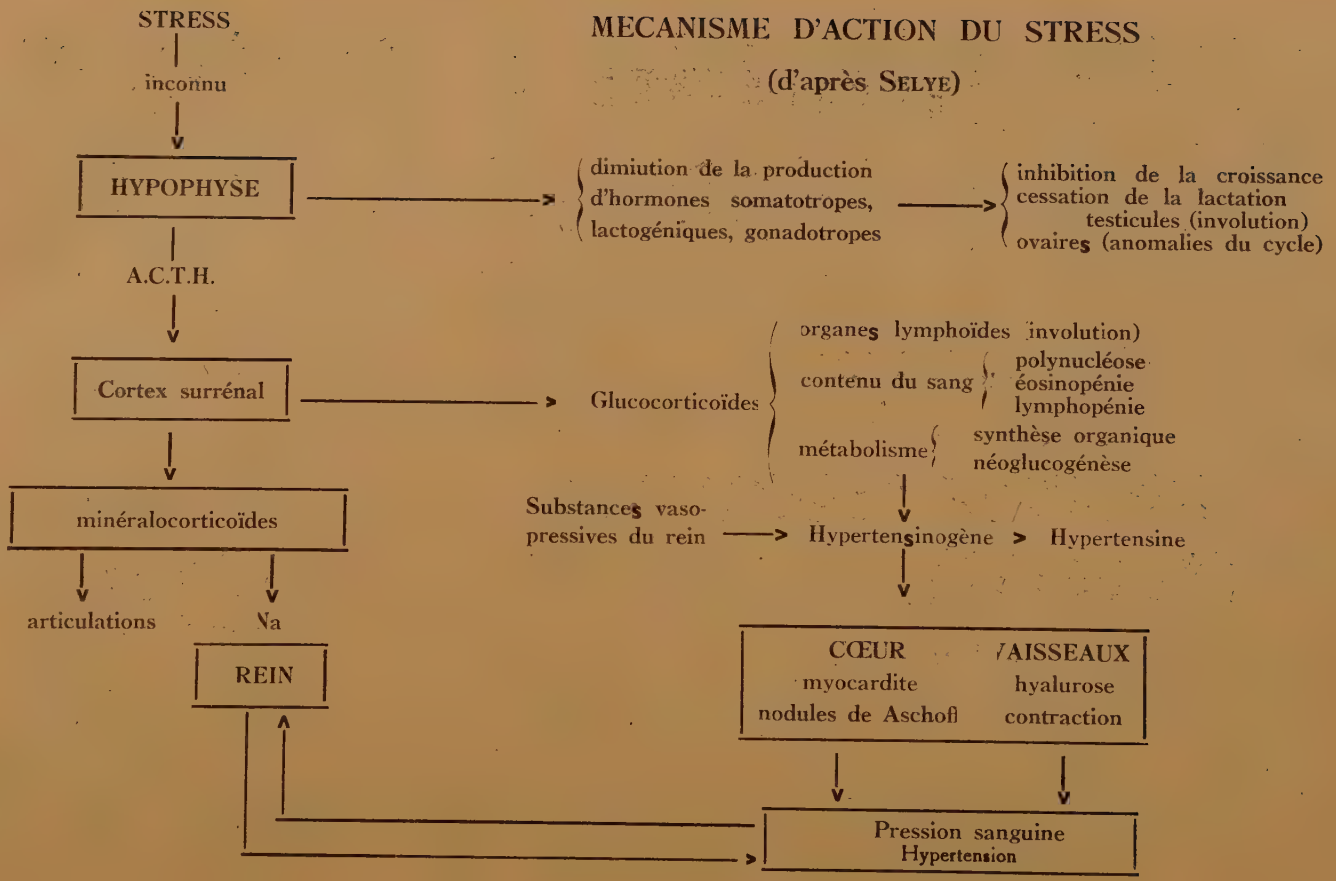
gne par les termes de « phénomènes systémiques non spécifiques ». Par exemple, le métabolisme général diminue pendant la période d'alarme, augmente ensuite pendant la période de résistance, pour diminuer encore pendant la phase d'épuisement. On observe également une augmentation de la sécrétion d'hormone corticotrope, à l'exclusion des autres hormones hypophysaires, traduite par une éosinopénie et une lymphopénie. On a décelé dans le cœur la présence de nodules fibreux identiques à ceux de ASCHOFF et dans le système digestif d'ulcères, notamment les ulcères de CURLING qui apparaissent après les brûlures. Le pancréas et le foie involuent, les 17 cétostéroïdes diminuent, augmentent et enfin s'épuisent. On peut dire que la réaction d'alarme englobe tous les phénomènes physiologiques non spécifiques produits par une exposition brutale à un stimulus auquel l'organisme n'est ni qualitativement, ni quantitativement adapté. La période de résistance comprend toutes les réactions physiologiques non spécifiques produites par une exposition prolongée à un stimulus auquel l'organisme a acquis une adaptation. La période d'épuisement représente toutes les réactions physiologiques non spécifiques qui se développent ultérieurement comme le résultat d'une exposition très prolongée à un stimulus auquel l'adaptation a été acquise, mais ne pourrait plus longtemps être maintenue.

L'hypophysectomie et la surrénalectomie rendent les stress sans effet.

Le tableau p. 20 résume les principaux phénomènes physiologiques observés au cours d'un stress. On peut les expliquer ainsi : le stress, selon un processus encore inconnu, alarme l'hypophyse qui diminue aussitôt sa production d'hormones somatotrope, lactogénique et gonadotrope. D'où la croissance est ralentie ou inhibée, la lactation cesse au cours d'un allaitement ; on observe une involution des organes génitaux mâles et des anomalies du cycle ovarien. Par contre, la quantité de cortico-stimuline hypophysaire (A.C.T.H.) augmente et excite le cortex surrénal qui augmente aussitôt sa production de gluco-corticoïdes et de minéralocorticoïdes.

MECANISME D'ACTION DU STRESS

(d'après SELYE)



Les gluco-corticoïdes provoquent l'involution et la destruction des organes lymphoïdes (thymus) avec apparition dans le sang et les urines d'une quantité d'acide urique élevée. Dans le sang on observe de la lymphépénie, de l'éosinopénie et de la polynucléose. La métabolisme général, notamment les synthèses organiques (néo-glucogénèse) sont perturbées. D'une façon générale, on peut dire que le métabolisme diminue et augmente à nouveau pendant la phase d'alarme, se maintient à un niveau élevé pendant la période de résistance et s'effondre au stade d'épuisement. Au cours de ces réactions, le volume du foie diminue et le taux du glycogène hépatique tend vers zéro ; la néo-glucogénèse devient alors très active. La transformation de l'hypertensinogène hépatique en hypertensine active dans le sang est accélérée. On constate par ailleurs que le temps de coagulation du sang est diminué. Le système cardio-vasculaire subit des transformations importantes (hypertension, thromboses post-opératoires, infarctus...). L'augmentation du taux des minéralo-corticoïdes s'accompagne d'une altération du métabolisme des électrolytes : la quantité de potassium intracellulaire augmente ; le taux du chlore diminue. Une rétention de l'ion sodium apparaît qui a pour conséquence immédiate d'augmenter la pression intra-rénale. Le rein, dont les tubes glomérulaires se bouchent, se sclérose ; la production de rénine augmente à l'intérieur du rein. La transformation de cette rénine en hypertensine active provoque des troubles vasculaires tels que l'hypertension, des périartérites, des nodules de Aschoff. Le volume sanguin augmente. Au niveau des articulations se forment des arthrites selon un processus mal expliqué.

A côté de ces réactions, on observe des œdèmes pulmonaires, une involution du pancréas, une augmentation du poids du cortex et de sa teneur en vitamine C, la formation d'ulcères (système digestif). On ne peut passer sous silence le rôle des décharges d'adrénaline (médullo-surrénale) au cours des phases d'alarme sur le système vasculaire (hypertension, sclérose) et sur le métabolisme des glucides. Par conséquent, un stress n'affecte pas seulement un point localisé (brûlures, abcès), mais l'ensemble du système physiologique. Il est alors remarquable de constater la solidarité qui unit les différents systèmes physiologiques pour une défense commune de l'organisme. Cette révélation est importante pour la thérapeutique dont les efforts devront tendre à rétablir l'équilibre rompu et éviter les thérapeutiques dissociées.

CONSIDERATIONS GENERALES SUR LE TEST DE THORN

Des considérations d'ordre très général que nous avons tenu à préciser ci-dessus, on va retenir l'importance qui s'attache à pouvoir disposer de tests permettant d'apprécier la valeur fonctionnelle de la cortico-surrénale. Il n'a certes pas échappé au lecteur que l'épreuve fonctionnelle principale en question est représentée par le test de Thorn tel qu'il se pratique actuellement dans les laboratoires de physiologie ou de clinique médicale. Nous avons pu noter à ce sujet que le plus souvent ce test se pratique en injectant au sujet en expérience, une substance capable d'exciter le fonctionnement du cortex surrénal, et de prendre comme signe de cette excitation la chute du nombre des éosinophiles sanguins. Si donc, on se propose de faire une étude critique des différentes techniques mises en œuvre pour réaliser le test de THORN, il convient de considérer essentiellement deux aspect des différents modes opératoires proposés. On conçoit qu'il faudra porter son attention, d'une part, sur la nature des substances injectées dans le but d'activer l'élaboration des hormones corticoïdes, et, d'autre part, d'apprécier la spécificité de la réaction mise en œuvre pour mettre en évidence le phénomène physiologique ainsi provoqué.

TECHNIQUE DU TEST DE THORN

Méthode classique. L'épreuve doit être faite chez un sujet à jeûn depuis la veille à 20 h., à l'exception de petites quantités d'eau.

Le jour de l'épreuve :

1° Le sujet absorbe 200 cm³ d'eau à 6 h., 8 h. et 10 h. pour provoquer une diurèse suffisante ;

2° A 8 h., on prélève du sang au pli du coude ; on y pratique une numération des ésonipohiles (comptés en chiffre absolu par mm³, selon une méthode particulière utilisant une dilution spéciale, une cellule à chambre profonde, et un réactif colorant électivement les éosinophiles en rouge brun foncé ;

3° Immédiatement après cette prise de sang, on injecte par voie intra-musculaire 25 mg. d'une A.C.T.H. aussi pure que possible, diluée dans 2 cm³ de sérum physiologique ;

4° A 12 h., on fait une deuxième prise de sang et l'on compte les éosinophiles comme précédemment.

THORN avait également choisi comme critère du fonctionnement surrénal l'augmentation de l'excrétion urinaire de l'acide urique, extériorisée de façon pratique par l'étude du rapport acide urique/créatinine dans les urines.

Nous essaierons, au cours de notre travail, d'autres agents de stimulation du cortex surrénal : extraits placentaires, largactil adrénochrome.

Nous étudierons également les variations de la 17-cétostéroïdémie que nous prendrons pour critère du fonctionnement surrénal.

Examinons successivement les deux points essentiels de la technique du test de THORN :

Il ressort de notre bref rappel d'hormonologie que la substance permettant d'obtenir une réaction physiologique de caractère spécifique du cortex surrénal est évidemment la corticostimuline A.C.T.H.). L'injection d'A.C.T.H. représente le moyen physiologique le plus rationnel qu'on a été ainsi amené à mettre en œuvre pour provoquer l'hypersécrétion des cortico-stéroïdes. Néanmoins, son emploi se heurte à un certain nombre de difficultés pratiques qui résident essentiellement d'ailleurs dans le fait qu'il s'agit d'une substance dont l'emploi est assez onéreux et qui peut, par ailleurs, présenter chez certains malades, une contre-indication susceptible de limiter son emploi. Aussi bien, a-t-on cherché à lui substituer d'autres produits présentant ce que les Américains appellent une « action A.C.T.H. like ». Ces dernières paraissent être assez nombreuses et l'on pourrait penser que toute substance « stressante » puisse être avantageusement substituée à l'A.C.T.H. Sans entrer dans le détail, disons que l'on a proposé dans ce but l'emploi de l'adrénaline (42), l'adrénochrome (7), etc... Plus récemment, il a même été démontré que la chloropromazine et même les extraits placentaires (28) pouvaient être également utilisés en raison de leur action « A.C.T.H. like ». Ainsi, si de nombreuses substances sont douées d'une telle action, encore faut-il envisager comment cette action a été mise en évidence. Cela nous amène maintenant à considérer le deuxième point de la technique générale de test de THORN qui consiste précisément dans l'obser-

vation de l'activation de la sécrétion du cortex surrénal. Nous avons vu que, le plus souvent, on se contente d'effectuer une détermination du taux des éosinophiles présents dans le sang, d'une part, avant l'injection de la substance « stressante » et, d'autre part, quelques heures après celle-ci. On considère comme positif un test de THORN s'accompagnant d'une chute nette du taux des éosinophiles.

La question primordiale qui se pose maintenant est la suivante : « l'éosinopénie doit-elle être considérée comme spécifique d'une réaction positive de l'excitation du cortex surrénal ? »

Pour répondre à cette question, il convient maintenant de nous arrêter assez longuement sur le déterminisme des variations du taux des éosinophiles sanguins. Mais avant de parler de ce déterminisme, il ne nous paraît pas inutile de rappeler que les recherches entreprises pour découvrir les liens éventuels entre l'hématopoïèse et les glandes endocrines n'ont abouti qu'à peu de résultats (BEER - (6).

La démonstration que la destruction caryoclasique des cellules thymiques et lymphatiques était un phénomène non spécifique qui pouvait être empêché par la surrénalectomie bilatérale a été une des premières acquisitions précises dans ce domaine (SELYE - (72).

Les travaux ultérieurs devaient montrer que les hormones du type de la cortisone et de l'hydrocortisone contrôlaient chez l'animal et chez l'homme la lymphopoïèse en influençant l'activité proliféatrice des lymphoblastes (SELYE - (72). Ces recherches, dont on connaît le retentissement dans le domaine de la médecine, montrèrent que le taux des éosinophiles sanguins était aussi influencé de façon spectaculaire par l'administration de ces stéroïdes, ou par la stimulation de l'hypophyse, ou par celle de la surrénale par l'hormone corticotrope (A.C.T.H.). L'hormone de la médullo-surrénale (adrénaline) se montrait aussi un agent puissant capable de diminuer l'éosinophilie sanguine.

La mono-semi-carbazone d'adrénochrome produisait des effets semblables (BEZON - (7). L'abaissement rapide, en quelques heures, du nombre des éosinophiles circulants fut surtout étudié en clinique sous le nom de diagnostic des insuffisances

hypophysaires ou surrénaliennes. L'aspect théorique de la question fut assez négligé et de nombreux auteurs semblent s'être contentés, sans plus, d'une des explications proposées et notamment, de l'dée que la cortisone détruisait les éosinophiles, ou modifiait leur répartition dans l'organisme.

Le problème du contrôle hormonal de l'éosinophilie sanguine n'a été posé qu'à la suite des travaux de SELYE sur le syndrome général d'adaptation. C'est en 1939 que DALTON et SELYE démontrent, pour la première fois, l'existence d'une chute marquée des éosinophiles chez l'animal soumis à des agents stressants non spécifiques. L'éosinopénie, avec l'involution lymphoïde, apparaît alors comme un des signes cytologiques du syndrome d'alarme que SELYE avait montré en 1936, ne peut se produire qu'en présence des surrénales.

Bien avant, déjà, plusieurs auteurs avaient observé cette éosinopénie au cours d'états pathologiques variés (ZAPPERT - (84), GOLDBERG, RUD (29-63), JOSEY et LAURENCE) - (40). SELYE devait démontrer que le commun dénominateur de ces expériences (jeûne, injection de produits acides ou basiques) était la stimulation hypophyse surrénale.

Après la découverte de l'éosinopénie du syndrome d'alarme, dix ans devaient s'écouler avant que l'on songe à utiliser cette modification hématologique comme test clinique. Notons les résultats apportés par BERR (6) dans une importante étude de la régulation nerveuse de l'hématopoïèse par les noyaux de base du cerveau, qui stimuleraient la moelle osseuse. Mais cette stimulation n'est possible que si l'appareil cortico-surrénalien est intact ou si les animaux sont injectés d'extraits de cortico-surrénale.

Il convient maintenant de s'arrêter un instant sur les caractères surprenants de l'osinopénie observée au cours de ce test de THORN. La lecture de l'éosinopénie sanguine s'effectue 4 heures après l'injection d'A.C.T.H. et, chez les sujets normaux on constate, qu'en ce bref intervalle de temps, les éosinophiles ont pour ainsi dire disparu du sang périphérique. Il n'est donc pas étonnant que l'on ait attribué cette modification si rapide de l'hémogramme, soit à une lyse rapide, soit à une migration rapide dans les organes profonds.

D'autre part, le test de THORN ayant été préconisé comme une méthode de recherche clinique, le plus grand nombre des travaux qui lui furent consacrés eurent pour but d'établir sa valeur diagnostique plutôt que son mécanisme intime.

Ce manque d'explications d'une modification aussi spectaculaire que celle du test de THORN nous paraît surprenant et nous envisagerons les hypothèses proposées.

DETERMINISME DE L'EOSINOPENIE HORMONALE

Le mécanisme de la chute des éosinophiles sanguins survenant au cours de la réaction d'alarme ou de l'injection d'A.C.T.H. (ou A.C.T.H. like) demeure incompris (CAPE - PERLIA - WEINER). Les hypothèses qui ont été imaginées pour tenter d'élucider cette question sont au nombre de trois :

1° Les stéroïdes cortico-surrénaliens exercent-ils un effet lytique direct sur les leucocytes éosinophiles ?

2° La réaction d'alarme ne s'accompagne-t-elle pas d'une modification de répartition des éosinophiles qui infiltreraient massivement certains tissus où ils se détruiraient éventuellement ;

3° L'élaboration des éosinophiles au niveau de la moelle osseuse n'est-elle pas subitement inhibée par la brusque élévation du taux sanguin des hormones cortico-surrénaliennes.

HYPOTHESE DE L'EOSINOLYSE

La rapidité du phénomène de l'éosinopénie hormonale s'accorde fort bien avec cette première hypothèse. PADAWER et CORDON observent la présence des fragments d'éosinophiles dans le sang circulant (52). Le nombre de ces fragments augmenterait après l'administration de cortisone ou d'adrénaline. MURCKE et Coll. faisant incuber, *in vitro,* du sang défibriné, notent 4 heures après la mise en incubation une chute du nombre des éosinophiles de — 15,2 p. 100 dans les tubes témoins et de — 44,9 p. 100 dans des tubes contenant du sang additionné de cortisone. Cette chute serait bloquée par l'adjonction d'héparine (47). En 1953, CORTES et MALLEN observent une fragilité accrue des leucocytes éosinophiles sous l'influence d'un traitement à la cortisone (18). En 1951,

Balridge (4) n'observe pas d'éosinolyse *in vitro* sous l'action de la cortisone. En 1952, Cape et Coll., dans de nouvelles expériences d'incubation de sang additionné de cortisone ou d'A.C.T.H., ne constatent, après 4 et 18 h., aucun phénomène de lyse des éosinophiles (16). Leurs résultats sont confirmés en 1953 par Bibile (8) qui étudie les effets de l'hydrocortisone sur les éosinophiles de la souris et du rat.

Les expériences effectuées *in vitro* ne peuvent cependant apporter une solution tout à fait convaincante à un phénomène probablement très complexe, dès qu'une action lytique directe de la cortisone est écartée. Le débat sur l'hypothèse de l'éosinolyse paraît épuisé depuis que Panzenhagen et Spill (53) ont publié leurs observations dont voici l'essentiel.

Ces auteurs examinent les éosinophiles présents dans le fluide péritonéal de la souris. L'identité des caractères cytologiques de ces cellules et de ceux des éosinophiles sanguins est certaine. Par l'injection intra-péritonéale de sérum de cheval, ils déterminent une hyperéosinophilie nette tant sanguine que péritonéale. Cependant, l'implantation intra-péritonéale de cortisone détermine d'abord la chute des éosinophiles sanguins, le nombre des éosinophiles péritonéaux ne diminuant que quelques heures plus tard. Il n'y a donc aucune preuve que la cortisone lyse les éosinophiles *in vivo*.

Le problème des lésions lymphoïdes produites par l'A.C.T.H. ou la cortisone est analogue. On a montré récemment quelle place revenait à la lyse et souligné la nécessité de nouvelles recherches (32).

HYPOTHESE DE LA MODIFICATION DE REPARTITION

Il convient de considérer tout d'abord le rôle éventuel de la rate dans le déterminisme de l'éosinopénie (32). Celui-ci est également l'objet de controverses. En 1951, Spain et Coll. (75) observent une accumulation transitoire de leucocytes éosinophiles dans la rate de souris traitée à la cortisone. Des expériences avec des animaux splénectomisés montrent, par ailleurs, la même éosinopénie hormonale que les animaux normaux (77). Pfeiffer et Coll. (55) discutent le rôle de la rate, rapportent l'observation de six

patients splénectomisés qui présentèrent après administration d'A.C.T.H., l'éosinopénie caractéristique.

Cependant, la rate ne représente qu'une partie du système réticulo-endothélial. L'expérimentation, basée sur la splénectomie permet clairement d'exclure le rôle de la rate, mais non celui d'une destruction dans l'ensemble du S.R.E. En 1950, THORN suggère que les éosinophiles, après s'être agglutinés, sont lysés par le S.R.E. Il n'en apporte cependant aucun élément de démonstration. Nous connaissons les propriétés diapédétiques des éosinophiles. Il ne faut donc pas nécessairement invoquer le pouvoir phagocytaire du S.R.E. pour interpréter l'extravasation des éosinophiles sanguins. Nous savons, par ailleurs, que la plupart des tissus de l'organisme sont susceptibles de présenter des infiltrats à polynucléaires éosinophiles. Les muqueuses digestives et respiratoires sont particulièrement instructives à cet égard. Dès lors, pourquoi ne pas admettre l'hypothèse selon laquelle l'éosinopénie hormonale résulterait d'une accélération de la migration des éosinophiles sanguins non seulement vers la rate, non seulement vers le S.R.E., mais bien vers l'ensemble des tissus de l'organisme. On a également observé (62) l'apparition d'infiltrats à polynucléaires éosinophiles, à disposition périvasculaires après une agression aiguë au formol et après brûlure cutanée étendue. Mais comme la découverte d'éosinophiles dans le tissu conjonctif n'est pas une rareté et que, d'autre part, on n'a pas pu reproduire les infiltrats précédemment décrits, ni par l'administration d'A.C.T.H., ni par l'administration de cortisone, il convient donc d'être prudent dans l'interprétation de ces images qui échappent à toute estimation quantitative précise.

Il faut conclure que la migration des éosinophiles sanguins vers les tissus est un phénomène continu et physiologique, mais il est difficile de démontrer une coïncidence entre une accélération de ce processus et l'apparition d'une éosinopénie hormonale.

HYPOTHESE DE L'INHIBITION MEDULLAIRE

De nombreux travaux confirment le rôle des hormones glycocorticoïdes dans la régulation de l'activité mitotique. L'inhibition des mitoses par ce groupe de stéroïdes était déja pressentie par WELLS et KENDALL en 1940 (82) lorsqu'ils observèrent un ralentissement considérable de la croissance des jeunes rats traités par

le « compound E ». D'autres observations portant sur la cicatrisation des plaies (32), sur la croissance des poils du rat (32), confirment l'effet anti-mitotique direct des glyco-corticoïdes en général et de la cortisone en particulier (32).

Une remarque fondamentale s'impose cependant. Pour admettre comme cause de l'éosinopénie hormonale une diminution de l'activité mitotique des myélocites éosinophiles, il faut, avant tout, préciser la durée de la vie sanguine des éosinophiles. De nombreuses observations portant sur les éléments figurés du sang conservé (*in vitro*) accordent aux éosinophiles une survie d'une dizaine de jours environ (58). Mais, *in vivo,* les éosinophiles partagent leur existence entre une première phase sanguine et une seconde phase tissulaire. Quelle est la durée de cette vie sanguine des éosinophiles Esselier (A. F. 27) la fixe à 6 jours (59), mais il soutient plus tard qu'elle ne serait que de 2 jours. S'il faut admettre une durée de vie sanguine des éosinophiles de 6 jours ou de 2 jours, il faut de toute évidence renoncer à expliquer le phénomène de l'éosinopénie hormonale par une diminution de l'apport médullaire. Car, dans cette hypothèse, à supposer même que toute activité médullaire soit soudainement arrêtée, l'éosinophilie sanguine va décroître linéairement pour atteindre zéro aux environs du dixième ou du deuxième jour. Cette évolution n'est pas celle de l'éosinopénie hormonale dont nous savons qu'elle atteint son maximum en 4 heures. Cette diminution ne peut être attribuée à une diminution de l'éosinophilopoïèse que si l'on pouvait accorder à l'éosinophile une vie sanguine beaucoup plus brève de quelques heures seulement.

L'éosinophilie médullaire a déjà fait l'objet de nombreuses observations cliniques pour la plupart. Des malades traités par la cortisone ou l'A.C.T.H. ont été soumis à des ponctions sternales et le nombre relatif des éosinophiles a été compté (32 - 33). Ce nombre d'éosinophiles médullaires étant toujours voisin de la normale, on en a conclu à l'absence du rôle joué par la moelle osseuse dans le déterminisme de l'éosinopénie hormonale. Cependant, le nombre des éosinophiles présents dans la moelle ne saurait refléter le rythme avec lequel celle-ci fabrique les éosinophiles jeunes. Le problème a donc été repris par Durgin et Meyer (25). Ils ont étudié la phase de récupération de l'éosinophilie chez la souris soumise à des injections d'extraits corticaux. Ils observent

que le retour à l'éosinophilie normale coïncide avec une augmentation du nombre des formes jeunes de myélocytes. Pilifero et Coll. (56) notent chez le rat, après surrénalectomie, une nette élévation du nombre des myélocites éosinophiles. Cette élévation ne se produit pas si l'animal est traité avec le « compound E ».

Bussi et Coll. (13) traitant des rats à la cortisone durant 20 jours, notent une activité mitotique des granulocytes médullaires très diminuée.

Mais l'activité mitotique des myélocytes éosinophiles dans ses rapports avec l'éosinopénie hormonale du test de Thorn n'avait jamais été étudiée.

Très récemment, de Harven a pris pour principal objet l'étude de l'activité mitotique des myélocytes éosinophiles du rat. Il a pensé que l'index mitotique éosinophile, c'est-à-dire le nombre de myélocytes en mitose pour 1.000 myélocytes, comptés sur frottis médullaire, constitue un reflet plus fidèle de la cadence avec laquelle la moelle osseuse fabrique de nouveaux éosinophiles.

Il a d'abord mis au point une technique originale de fixation et de coloration de frottis médullaire (32). Cela lui a permis de définir les index mitotiques observés chez les rats normaux. Les valeurs moyennes observées sont : index mitotique éosinophile 4,41 p. 1.000 ; index mitotique de l'ensemble des éléments nucléés non éosinophiles de la moelle osseuse, 3,33 p. 1.000.

Cherchant à rendre ces index plus démonstratifs, de Marven a utilisé une méthode dite colchicinique destinée à élever ces index. Mais 6 heures après l'administration sous-cutanée de 1 mg/kg de colchicine, seul l'index mitotique des éléments non éosinophiles s'éleva, l'index mitotique éosinophile ne présentant pas d'élévation caractéristique (32).

Une nouvelle série d'observations fut entreprises dans le but d'interpréter le phénomène qui vient d'être décrit. Pour mettre à l'abri les animaux de l'éventuel effet stressant de la colchicine, on utilisa des rats surrénalectomisés. Chaque série de trois rats comprenait un animal témoin, un animal surrénalectomisé et un autre animal également surrénalectomisé, mais soumis à des doses élevées de cortisone. Dans ces conditions, les index mitotiques éosinophiles étudiés comme précédemment par la méthode colchici-

nique, présentèrent des fluctuations hautement caractéristiques. Dans chaque série, l'activité mitotique des myélocytes éosinophiles fut toujours élevée chez les animaux surrénalectomis, et basse chez les témoins, ainsi que chez les surrénalectomisés traités par la cortisone.

Ces observations paraissent démontrer l'existence d'un effet inhibiteur des hormones cortico-surrénaliennes sur l'activité mitotique des myélocytes éosinophiles.

En conclusion, il semblerait que le phénomène de l'éosinopénie hormonale trouve sa meilleure explication du moins partielle dans une inhibition soudaine de l'éosinopoïèse médullaire. Il faut, pour cela, admettre l'action anti-mitotique des hormones cortico-surrénaliennes et une vie sanguine fort brève des leucocytes éosinophiles.

Les arguments présentés en faveur de l'éosinolyse et de la répartition modifiée paraissent plus fragiles. Une intrication des trois phénomènes est probable.

L'EOSINOPENIE PROVOQUEE PAR L'ADRENALINE

L'injection d'adrénaline chez l'homme et chez les rongeurs provoque une chute rapide du taux des éosinophiles. Cette méthode a été préconisée pour l'étude de l'intégrité de l'axe hypophyso-surrénalien, mais récemment plusieurs auteurs (19 - 32 - 34) ont montré qu'elle présentait des inconvénients et qu'il n'était pas exclu que l'adrénaline puisse, à elle seule, abaisser le taux des éosinophiles sanguins, sans intervention endocrinienne, et ont rappelé la notion ancienne d'une régulation nerveuse de l'éosinophilie. La signification de ce fait avait paru devenir plus claire avec la découverte du syndrome d'alarme par SELYE et la démonstration du rôle de l'hypophyse et des surrénales.

En 1945, LONG et FRY reprennent l'étude de l'adrénaline pour essayer de mieux comprendre par quelle voie le stress influence la sécrétion d'A.C.T.H. par l'hypophyse. Ils pensent (42) qu'un des dénominateurs communs est la stimulation du système sympathique, provoquant donc une libération accrue d'adrénaline. Ils administrent à des rats de l'adrénaline et constatent une diminution marquée de la teneur du cortex surrénalien en acide ascorbi-

que et lipides. Ils ne peuvent déterminer si l'adrénaline exerce cet effet par une action directe sur l'hypophyse ou par l'intermédiaire d'une modification sanguine encore inconnue.

En 1948, THORN, ayant constaté que l'éosinopénie consécutive à l'injection d'adrénaline constante chez l'individu normal ne se retrouvait pas dans des cas d'hypopituitarisme et dans la maladie d'Addison, supposa que l'adrénaline agissait en provoquant une stimulation de l'ante hypophyse qui sécréterait alors de l'A.C.T.H. De nombreux auteurs conclurent à la validité de cette hypothèse (SPEERS et MEYER - (76).

Cependant, en 1950, BROCH et HANGEN (11) et FOSSEY et DELTOUR (19) au cours d'essais cliniques, chez des malades en insuffisance surrénalienne, obtiennent des résultats peu convaincants et mettent en doute la valeur du test de THORN à l'adrénaline. THORN lui-même conclut récemment que la chute des éosinophiles n'est produite qu'en partie par les hormones cortico-surrénaliennes (cortisone et hydrocortisone) et, qu'au cours du stress, l'influence de l'adrénaline ne peut être négligée (78). Celle-ci se ferait sentir par un autre mécanisme encore inconnu. Le dosage des 17 cétostéroïdes après l'injection d'A.C.T.H. permettant d'estimer l'importance de la sécrétion cortico-surrénalienne on est donc ainsi ramené aux méthodes classiques d'estimation biochimique de la fonction de la surrénale.

Sans doute, pour comprendre le mécanisme de l'éosinopénie dans le test de THORN, il n'est pas impossible que l'action de l'adrénaline nous soit un jour utile si l'on parvient à l'expliquer.

Comme on vient de le voir, nous nous sommes trouvés dans l'obligation de faire une assez longue digression relativement aux facteurs susceptibles de modifier le taux des éosinophiles sanguins. Nous avons vu aussi qu'il y a lieu de retenir essentiellement trois hypothèses permettant de rendre compte d'une éosinopénie provoquée. Le taux des éosinophiles peut diminuer sous l'influence d'une éosinolyse, par le fait d'une modification de leur répartition entre le sang et différents autres organes, ou encore, et certainement dans la plupart des cas, sous l'influence d'une inhibition cellulaire. Nous pensons que l'éosinopénie résulte d'une intrication de ces trois phénomènes principaux, et il est bien évident que ceux-ci sont sous la dépendance de facteurs très dissem-

blables dont le rôle apparaîtra plus clairement le jour où la durée de la vie des éosinophiles sera connue plus exactement. Aussi bien les conclusions qui s'imposent ne permettent pas de pouvoir considérer que la diminution du taux des éosinophiles sanguins puisse être considérée comme spécifique de la seule excitation de la cortico-surrénale.

Nous ne devons retenir de cette étude qu'un seul fait positif, qui est le suivant : une hypersécrétion du cortex surrénal s'accompagne toujours d'une éosinopénie, sans que cette simple coïncidence mérite d'être considérée comme une réaction spécifique. Ainsi donc il n'est pas exclu de considérer que, dans certains cas, l'observation d'une chute du taux des éosinophiles sanguins puisse être sans rapport avec une réaction hypophyso-cortico-surrénalienne.

Malgré cette critique fondamentale que nous avons tenu à préciser, la pratique du test de THORN est restée basée jusqu'à ce jour, sur l'observation du taux des éosinophiles sanguins consécutivement à l'injection d'une substance « stressante ». Dès lors, il est surprenant, étant donné le manque de spécificité de l'observation histologique, que l'on ne se soit pas préoccupé de rechercher dans les variations du taux des 17 cétostéroïdes, un témoignage fidèle de la valeur fonctionnelle du cortex surrénal. C'est vraisemblablement le défaut de techniques permettant de déterminer les variations des 17 cétostéroïdes sanguins à une échelle au moins semi-micro-analytique qui a contribué au maintien des examens hématologiques.

Il semble cependant que des progrès dignes d'intérêt doivent être apportés à l'exécution du test de THORN depuis la mise au point par G. VALENSI, d'une technique permettant le dosage des 17 cétostéroïdes sanguins sur des prises de sang réduites à 5 cm^3.

En résumé, il ressort des considérations précédentes que la validité du test de THORN est essentiellement fonction des deux facteurs suivants :

1° La substance stressante injectée dans le premier temps de ce test doit avoir une action spécifique sur l'excitation de la sécrétion du cortex surrénal. A cet égard, l'A.C.T.H. est évidemment l'excitant physiologique le plus spécifique. L'activité

de tout succédané doit être l'objet d'un contrôle rigoureux ;

2° La réaction du cortex surrénal doit être observée au moyen d'un phénomène pouvant être considéré comme spécifique de cette excitation. A cet égard, la chute du taux des éosinophiles ne présente pas le caractère de spécificité requis ; il ne s'agit que d'une coïncidence, capable néanmoins de rendre d'importants services. Les variations du taux des 17 cétostéroïdes sanguins consécutives à l'injection d'A.C.T.H. ou d'une substance possédant une activité comparable, présente, de toute évidence, l'intérêt d'un caractère infiniment plus spécifique.

Ainsi donc, il apparaît intéressant de pouvoir comparer les résultats du test de THORN pratiqué, d'une part, à la suite d'injections stressantes diverses et, d'autre part, de comparer les résultats ainsi obtenus, soit par l'observation des variations du taux des éosinophiles sanguins, soit des variations du taux des 17 cétostéroïdes sanguins.

Une telle étude présenterait évidemment l'avantage de permettre d'apprécier la valeur respective à la fois des substances mises en œuvre pour la pratique du test de THORN, et des techniques histologiques ou bio-chimiques.

OBJET DU TRAVAIL

De notre brève introduction, nous retiendrons essentiellement que la pratique du test de THORN mérite d'être étudiée sous deux aspects différents. Le premier consiste dans le choix de la substance injectée dans le but de remplacer éventuellement l'A.C.T.H. pour éprouver la valeur du fonctionnement du cortex surrénal. Le deuxième consiste dans la recherche de la technique présentant la meilleure garantie, en ce qui concerne la spécificité de la réaction physiologique provoquée dans le premier temps.

Il est bien évident que seules seront retenues les substances que l'on se propose de substituer à l'A.C.T.H., et dont l'injection aura pour effet de permettre d'observer à la fois une chute du taux des éosinophiles sanguins et, simultanément, une élévation de la 17-cétostéroïdémie.

De nombreuses recherches antérieures ont permis de proposer tout un groupe de substances stressantes susceptibles d'abaisser le taux des éosinophiles. Citons, en dehors de l'A.C.T.H., l'adrénaline, la mono-semi-carbazone d'adrénochrome, les extraits placentaires, le largactil etc... Ces derniers corps provoquent, en effet, une éosinopénie marquée, et nous ne reviendrons pas sur des faits aussi nettement établis. Par contre, nous nous proposons, par une étude comparée, de nous rendre compte si cette éosinopénie s'accompagne, nécessairement ou non, d'une variation des 17 cétostéroïdes sanguins.

En résumé, le but de notre travail est donc de suivre les variations des 17 cétostéroïdes sanguins consécutivement à l'injection chez le chien des doses convenables des substances suivantes : A.C.T.H., extraits placentaires, largactil et mono-semi-carbazone d'adrénochrome.

Ainsi que nous venons de le définir, l'objet de notre travail consiste à suivre dans le temps les variations de la 17-cétostéroïdémie consécutive à l'injection de diverses substances. Le protocole de ces expériences sera toujours le même. L'animal choisi est le chien. On déterminera la 17-cétostéroïdémie sur une prise de sang d'environ 5 cm³ effectuée immédiatement avant l'injection de la substance étudiée. Nous définirons toujours la dose de cette dernière par unité de poids (kg) de l'animal. L'injection sera faite par voie intra-veineuse. Des prises de sang seront ensuite effectuées à des temps différents. La méthode de dosage des 17-cétostéroïdes sanguins utilisée est celle mise au point par VALENSI. Nous en donnons ci-dessous la description détaillée.

Dosage colorimétrique de la 17-cétostéroïdémie selon la technique de C. DUMAZERT et G. VALENSI.

La technique que nous proposons est la suivante :

Dans un tube à centrifuger d'environ 60 cm³ et muni d'un rodage, introduire 5 cm³ de sang ou plasma, puis 0,5 cm³ d'une solution 12 N d'acide sulfurique. Placer sur le tube un bouchon rodé, porteur d'une canne de verre de 20 à 30 cm. de long, destiné à servir de réfrigérant à reflux. Maintenir le tube pendant 15 minutes dans un bain-marie d'eau bouillante.

Au bout de ce temps, refroidir le tube et en neutraliser le contenu par addition d'un g. de carbonate de calcium ajouté par petites portions et en agitant à l'aide d'une épaisse baguette de verre. Ajouter ensuite 10 g. de sulfate de sodium anhydre (1). Malaxer fréquemment avec la baguette de verre. Le sulfate de soude cristallise peu à peu ($SO_4Na_2 + 10\ H_2O \rightarrow SO_4Na_2, 10\ H_2O$) et le contenu du tube prend l'aspect d'une masse sèche pulvérulente. En été, il est avantageux de refroidir extérieurement le tube pour accélérer cette prise en masse. Ceci étant réalisé, ajouter 30 cm³ d'éther exempt de peroxydes (*). Broyer la masse sous

(1) Fraîchement calciné si possible.

(*) Dans un flacon de 2 litres, introduire 200 cm³ d'une solution de 10 % de sulfate ferreux, puis 20 g. de limaille de fer et enfin 1 litre d'éther du commerce. Agiter. Au bout d'au moins 24 heures de contact, distiller au moment de l'emploi, la quantité d'éther nécessaire aux essais à effectuer. La solution ferreuse sera renouvelée lorsqu'elle aura été en contact avec 10 litres d'éther environ.

l'éther, retirer l'agitateur que l'on déposera sur un verre de montre. Boucher le tube avec son bouchon rodé et agiter très vigoureusement.

Centrifuger à une vitesse réduite (on peut se contenter de laisser déposer). Filtrer la couche éthérée sur un petit filtre à plis en recueillant le filtrat dans une ampoule à décantation de 100 cm³. Reprendre la masse cristalline par 10 cm³ d'éther purifié : malaxer, agiter, centrifuger, filtrer et recueillir l'éther dans l'ampoule. Renouveler cette opération avec 10 cm³ d'éther.

Introduire alors dans l'ampoule 2 cm³ d'une solution de potasse à 15 p. 100. Agiter avec précaution pour éviter les émulsions. Eliminer la couche aqueuse alcaline par le robinet inférieur. Laver deux fois la liqueur éthérée ; le premier lavage avec 10 cm³ d'une solution aqueuse saturée de sulfate acide de potassium (SO_4KH), le deuxième lavage sera facilement exécuté avec 10 cm³ d'eau distillée. Transvaser l'extrait éthéré dans un ballon à extraction de 100 cm³ en lavant l'ampoule avec une petite quantité d'éther pur. Chasser l'éther par distillation (**) au bain-marie. Dessécher le contenu du ballon en achevant la distillation sous pression réduite.

Après refroidissement complet du ballon, y introduire successivement :

— 0,2 cm³ d'alcool à 96° exempt d'aldéhyde (***) que l'on fera courir sur les parois du ballon ;

— 0,2 cm³ d'une solution à 2 g. p. 100 de m. dinitrobenzène dans l'alcool exempt d'aldéhyde ;

— 0,2 cm³ d'une solution aqueuse de potasse 5 N.

Après mélange, abandonner les ballons bouchés pendant 105 minutes à l'obscurité dans un thermostat réglé à la température de 25°C. Au bout de ce temps, ajouter 5 cm³ du mélange constitué par 30 cm³ de glycérine et 70 cm³ d'alcool à 96°C ordinaire. Procéder à la détermination colorimétrique au bout de trois minutes avec l'appareil dont dispose le laboratoire.

(**) L'éther ainsi récupéré est mis en contact avec la solution ferreuse.

(***) A 100 cm³ d'alcool, ajouter 2 g. de zinc en poudre et 2 g. de potasse en pastille. Chauffer 20 minutes sous réfrigérant à reflux et distiller. Utiliser cet alcool dans le courant d'une semaine.

A partir de déhydroandrostérone, nous avons établi les graphiques de référence relatifs à l'emploi des photomètres de PULFRICH (filtre S 50 ; = 500) et de BONET-MAURY (filtre n° 2 ; = 460 — 520) en nous servant, dans les deux cas, de cuves de 1 cm. d'épaisseur. Pour cela, on prépare une solution-mère de 15 mg. de déhydroandrostérone pure dans 20 cm³ d'alcool purifié. Au moyen d'alcool, on prépare une série de dilutions contenant de 30 à 150 mg. de ce cétostéroïde dans 0,2 cm³ (voir tableau) sur lesquels on effectue la réaction de ZIMMERMAN. L'essai témoin est effectué en remplaçant les 0,2 cm³ de solution de stéroïde par 0,2 cm³ d'alcool purifié. Le tableau ci-dessous contient les données qui permettent d'établir les graphiques de référence qui sont des droites.

Exemple d'étalonnage à partir d'une solution-mère de déhydroandrostérone à 15 mg. *pour* 20 cm³

Dilution		Déshydroandrostérone en u g. pour 0,2 cm³	Extinction (1)	
Cm³ de solution mère	Cm³ d'alcool		Pulfrich	Bonet-Maur
1	4	30	19	15
2	3	60	35	25
3	2	90	54	40
4	1	120	75	54
5	0	150	94	

Il est important de souligner que nous avons vérifié que la quantité importante de cholestérol fatalement présentdans l'extrait final n'interfère nullement au cours de la réaction de ZIMMERMAN.

Selon le protocole expérimental et la technique précisés ci-dessus, nous avons successivement étudié l'action sur la 17-cétostéroïdémie du chien, des injections de substances suivantes : A.C.T.H., extraits hydro-alcooliques placentaires, chloropromazine et semi-carbazone d'adrénochrome (adrénoxyl), Les résultats de nos expériences sont consignés dans les tableaux ci-après : 1, 2, 3 et 4.

VARIATIONS DE LA 17-CETOSTEROIDEMIE SOUS L'INFLUENCE DE LA CORTICOTROPHINE HYPOPHYSAIRE

Nous avons déjà souligné l'importance du rôle joué par la corticotrophine au cours des différentes étapes de la vie physiologique. Son emploi répandu en thérapeutique pose des problèmes importants concernant son action et ses répercussions. Après les travaux de THORN et SAYERS qui mirent au point des tests qui portent leur nom et permettent de mesurer la réponse du cortex surrénal à l'excitation hypophysaire, les recherches s'orientent actuellement vers le dosage des 17-cétostéroïdes éliminés dans les urines. Ces dosages permettent évidemment d'évaluer la réponse cortico-surrénalienne, mais ne donnent aucun renseignement sur le temps écoulé entre l'excitation par la corticostimuline et la réponse surrénalienne. De plus, l'excrétion des 17-cétostéroïdes par l'urine peut, au cours des différentes réactions métaboliques, subir de grandes variations qui fausseront l'interprétation des résultats. Aussi semblait-il plus logique de substituer au dosage des 17-cétostéroïdes urinaires, l'étude des variations de la 17-cétostéroïdémie. Les 17-cétostéroïdes étant des corps qui s'éliminent rapidement, on peut essayer d'observer les phases croissantes et décroissantes du processus hormonal.

Nous avons choisi le chien comme animal d'expérience et nous avons opéré de la façon suivante : après avoir recueilli la quantité nécessaire de sang témoin, nous avons injecté par voie intra-veineuse la corticotrophine, à raison d'une unité par kilog et prélevé du sang à intervalle régulier pour pouvoir mettre en évidence l'action de l'hormone. Pour ne pas soutirer à l'animal de trop grandes quantités de sang, c'est sur le sang total défibriné par agitation et non sur le sérum que nous avons fait les dosages. Le tableau n 1 donne les résultats obtenus chez quelques chiens.

De l'examen des résultats contenus dans le Tableau I, il ressort que, comme l'on devait s'y attendre, les injections d'A.C.T.H. provoquent toujours une nette élévation du taux des 17-cétostéroïdes neutres circulant dans le sang. L'augmentation observée

TABLEAU I

Valeur de la 17-cétostéroïdémie (mg. pour 1.000 cm³)
déterminée à des temps différents après une injection d'une unité d'A.C.T.H.
par kilog de poids corporel chez le chien

TEMPS après l'injection	NUMERO et POIDS DU CHIEN											
	I 11 Kg	II 10 Kg	III 12,5 K	IV 16 Kg	V 8 Kg.	VI 8 Kg.	VII 10 Kg	VIII 14 Kg	IX 15 Kg	X 15 Kg	XI 10 Kg	XII 15 Kg
0 h. 00 min (avant l'injection)	4,40	7,60	7,40	5,20	8,20	5,00	6,60	6,60	7,00	7,00	3,20	1,00
0 h. 30 min.		8,00	8,60									
1 h. 00 min.		7,60	8,40		9,60			6,20				
1 h. 30 min.		8,00	9,60									
2 h. 00 min.	*8,75*	*8,20*	*10,00*	6,60	*10,20*	7,80	5,80	7,10				
2 h. 30 min.				*8,80*			5,80			14,00	6,20	5,80
3 h. 00 min.						6,60	8,70	7,60	8,00			
3 h. 30 min.									9,00	7,80	4,60	11,00
4 h. 00 min.	4,60			8,40		6,80	11,80	7,40	4,80			
4 h. 30 min.									4,80	6,80	3,00	13,80
5 h. 00 min.												10,60
5 h. 30 min.												1,00

représente en moyenne 50 p. 100 de la valeur initiale de la cétostéroïdémie. Celle-ci augmente progressivement et atteint son maximum au bout d'un temps assez variable selon l'animal, mais qui est toujours compris entre 2 h. et 3 h. 30 minutes. Remarquons que ces résultats coïncident avec l'éosinopénie constatée dans les mêmes conditions au cours de la pratique classique du test de THORN. Nous avons donc mis en évidence les variations de la 17-cétostéroïdémie du chien sous l'influence de l'A.C.T.H. Nos résultats sont en accord avec ceux déjà établis par C. DUMAZERT, J. DELPHAUT et H. FOURNIER (23) et confirment l'action corticostimulante de l'hypophyse. Ils peuvent, de ce fait, servir de base à une modification du test de THORN en substituant l'observation des variations de la 17-cétostéroïdémie à celle des variations du taux des éosinophiles consécutive à une injection d'A.C.T.H.

VARIATIONS DE LA 17-CETOSTEROIDEMIE SOUS L'INFLUENCE DES EXTRAITS PLACENTAIRES

Les résultats obtenus après sollicitation spécifique du cortex surrénal par l'hormone corticotrope nous ont encouragés à poursuivre nos recherches sur les facteurs de variation susceptibles de modifier la 17-cétostéroïdémie. Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier l'influence des préparations placentaires sur la 17-cétostéroïdémie. En effet, l'emploi thérapeutique de ces extraits laisse à penser qu'ils contiennent des facteurs présentant une action comparable à celle de la corticostimuline hypophysaire. Des preuves tangibles concernant l'existence d'une hormone corticotrope dans le placenta ont été d'ailleurs apportées simultanément par Opsahl, Long et Fry (51), Tornetino (76) qui ont obtenu un test de Sayers positif, ainsi que Aron (1), de Brux et du Boistesselin (12) pendant que Vachon et Cotte (80) obtenaient un test de Thorn positif (3, 9, 10). Mais comme dans le cas de la corticostimuline hypophysaire, ces méthodes ne nous fournissent aucun renseignement précis sur le temps écoulé entre l'injection du produit et la réponse du cortex surrénal. Par conséquent, nous avons continué nos expériences sur le chien en étudiant la 17-cétostéroïdémie en fonction du temps avant et après l'injection d'extrait placentaire.

Nous avons préparé un extrait placentaire aqueux selon les recherches effectuées dans le laboratoire sur la préparation des extraits placentaires. Nous avons obtenu notre extrait par extraction au Kumagawa par l'alcool bouillant de placenta humain lyophilisé. Nous avons ensuite chassé l'alcool et repris par du sérum physiologique. Pour réaliser notre extraction, nous avons choisi une quantité correspondante à 250 g. de placenta frais, en sorte que la solution finale soit de 50 cm^3 et qu'un cm^3 représente 2,50 g. de placenta frais. C'est donc une solution aqueuse dépourvue de portéine stabilisée par tyndallisation, que nous avons injectée à l'animal. Au cours de nos expériences, nous n'avons d'ailleurs constaté aucune réaction de choc chez le chien. Nous avons d'abord injecté aux premiers chiens une quantité correspondante à 1,25 g. de placenta frais par kilog de poids corporel, puis nous avons augmenté cette dose à 1,875 g. et enfin à 2,50 g. L'augmen-

tation de la quantité de placenta n'a absolument pas affecté l'animal. Nous donnons, ci-dessous, le tableau des résultats obtenus avec les six chiens considérés.

TABLEAU II

Valeurs de la 17-cétostéroïdémie (mg. pour 1.000 cm³) déterminées à des temps différents après injection d'extrait placentaire dont 1 cm³ représente 2,50 g. de placenta frais et dont les quantités injectées étaient de 1,25 g., 1,875 g., 2,50 g., par kilog de poids corporel chez le chien.

TEMPS après l'INJECTION	NUMERO et POIDS DU CHIEN POIDS DE PLACENTA INJECTE PAR KILOG. DE POIDS CORPOREL					
	I 10 K 1,25 g/K	II 14,6 K 1,25 g/K	III 14,5 K 1,875 g/K	IV 10,5 K 2,50 g/K	V 15 K 2,50 g/K	VI 15 K 2,50 g/K
0 h. 00 min. (av. l'injection)	5,20 mg.	5,00 mg.	4,80 mg.	2,40 mg.	1,20 mg.	2,80 mg.
1 h. 00 min.					2,00 mg.	4,00 mg.
2 h. 00 min.	7,10 mg.	4,80 mg.	4,80 mg.	4,60 mg.	*2,60* mg.	*6,50* mg.
3 h. 00 min.	*7,80* mg.	*6,80* mg.	*6,00* mg.	3,20 mg.	1,90 mg.	4,40 mg.
4 h. 00 min.			3,00 mg.	3,80 mg.		

De l'examen de ces résultats, il ressort que l'injection d'extrait placentaire provoque toujours une élévation nette du taux des 17-cétostéroïdes neutres circulant avec le sang. L'augmentation observée représente en moyenne 60 p. 100 de la valeur initiale de la cétostéroïdémie. Celle-ci augmente progressivement et atteint son maximum aux environs de la troisième heure pour les doses inférieures à 2,50 g. par kilog de poids corporel, alors qu'avec cette dose son maximum se situe vers la deuxième heure. Il apparaît donc que l'augmentation de la quantité injectée se traduit par une accélération de la réponse cortico-surrénale. De plus, aucun chien ne s'est révélé réfractaire à l'action des extraits placentaires.

Il apparaît aussi que l'extraction du placenta lyophilisé par l'alcool bouillant permet d'obtenir un extrait caractérisé par une activité physiologique comparable à celle de la corticostimuline hypophysaire. En comparant les résultats des Tableaux I et II, il est permis de conclure que les doses de nos extraits placentaires correspondant à 2,50 g. de placenta frais présentent une activité comparable à celle de une unité de corticostimuline.

Nos résultats viennent donc confirmer les notions acquises en thérapeutique, sur l'activité corticotrophique du placenta. Il semble dès lors possible de substituer les extraits placentaires à la corticostimuline hypophysaire à la fois en thérapeutique et au cours du test de THORN.

VARIATION DE LA 17-CETOSTEROIDEMIE SOUS L'INFLUENCE DE L'INJECTION DE LARGACTIL

L'administration de Largactil est suivie d'une éosinopénie qui paraît traduire que ce médicament a pour premier effet de provoquer une réaction de la corticale. Nous avons pensé intéressant de rechercher si cette action pouvait être confirmée par l'observation des variations de la cétostéroïdémie. Nous donnons ci-dessous, à titre d'exemple, les résultats de nos essais, relatifs à deux animaux seulement, car ces premiers résultats doivent s'intégrer dans un travail d'ensemble poursuivi au Laboratoire de Physiologie et de Chimie de la Faculté de Marseille. Disons que ces deux exemples ont été confirmés par des recherches plus étendues, mais comportant un protocole expérimental qui sort du cadre de notre sujet.

TABLEAU III

Valeur de la 17-cétostéroïdémie (mg. pour 1.000 cm³) déterminée à des temps différents après une injection (de un à deux mg. par kg. de poids corporel) de Largactil .

TEMPS après l'injection	NUMERO et POIDS DU CHIEN	
	I — 10 Kg.	II — 8 Kg. 500
0 h. 00 min. (av. l'inject.)	1,38	2,90
2 h. 00 min.	3,80	
2 h. 15 min.		3,20
3 h. 00 min.	1,60	
3 h. 30 min.		3,40
4 h. 00 min.	1,20	
4 h. 30 min.		4,60
5 h. 00 min.	1,00	

De l'examen de ces résultats, il ressort que le Largactil se comporte comme une substance douée de l'action A.C.T.H. like caractérisée par la simultanéité de la production d'une éosinopénie et d'une élévation marquée de la 17-cétostéroïdémie.

VARIATIONS DE LA 17-CETOSTEROIDEMIE SOUS L'INFLUENCE DE L'INJECTION DE LA MONO-SEMI-CARBAZONE D'ADRENOCHROME

Selon le protocole expérimental déjà décrit en ce qui concerne notre étude de l'A.C.T.H. et des extraits placentaires, nous avons suivi dans le temps les variations de la cétostéroïdémie consécutivement à l'injection, chez le chien, de mono-semi-carbazone d'adrénochrome, à des doses variant entre 0,50 et 1 cm³ de solution (0,5 g. pour 1.000) de mono-semi-carbazone d'adrénochrome.

Les résultats de ces expériences sont consignés dans le tableau ci-dessous :

TABLEAU IV

Valeur de la 17-cétostéroïdémie (mg. pour 1.000 cm³) déterminée à des temps différents après une injection de mono-semi-carbazone d'adrénochrome.

TEMPS après l'injection	NUMERO et POIDS DU CHIEN				
	I. 6 Kg	II. 8,50 Kg.	III. 10,500 Kg.	IV. 11,500 Kg	V. 14,500 Kg
0 h. 00 min. (av. l'inject.)	14,20	3,60	6,32	5,75	2,80
0 h. 15 min.			4,60		
0 h. 30 min.			5,60		
0 h. 45 min.			6,80		
1 h. 00 min.		2,40		3,00	1,60
1 h. 15 min.	6,60				
1 h. 30 min.					
1 h. 45 min.					
2 h. 00 min.		2,00		2,30	2,20
2 h. 15 min.					
2 h. 30 min.	4,40				
2 h. 45 min.					
3 h. 00 min.		2,00		3,40	3,60

De l'examen des résultats consignés dans le Tableau IV, il ressort que les injections de la mono-semi-carbazone d'adrénochrome provoquent des variations de la 17-cétostéroïdémie très différentes de celles observées précédemment à la suite des injections d'A.C.T.H., d'extraits placentaires ou de Largactyl. En effet, nous observons ici des variations de sens inverse : le mono-semi-carbazone d'adrénochrome provoque en général une diminution de la 17-cétostéroïdémie.

Il y a lieu de remarquer que ces résultats ne cadrent pas avec l'éosinopénie signalée par les auteurs qui ont proposé l'emploi de la mono-semi-carbazone d'adrénochrome pour remplacer l'A.C.T.H. dans la technique du test de THORN. Ce fait fera l'objet d'une discussion particulière lors de la discussion générale de nos résultats et des conclusions que nous tirerons de notre travail.

EN RÉSUMÉ, nos recherches expérimentales nous ont permis de mettre en évidence l'augmentation de la 17-cétostéroïdémie consécutive à l'injection d'A.C.T.H., d'extraits placentaires et de Largactil. Si l'on se réfère aux travaux antérieurs, on doit signaler que ces variations vont de pair avec une diminution morquée du taux des éosinophiles sanguins. Par contre, nous avons montré que l'injection de la mono-semi-carbazone d'adrénochrome se différenciait des substances précédentes en ce sens qu'elle se comporte comme « hypo-17-cétostéroïdémiante », alors que, par ailleurs, elle a été classée parmi les substances capables d'abaisser le taux des éosinophiles.

Ces résultats étant acquis, nous allons maintenant les discuter plus longuement et nous efforcer d'en tirer les conclusions auxquelles ils nous ont conduits.

CONCLUSIONS

Notre travail a donc consisté essentiellement à présenter une étude comparée des variations des 17 cétostéroïdes sanguins consécutivement à une injection de différentes substances chez le chien. Les substances étudiées sont : la corticotrophine hypophysaire, A.C.T.H., les extraits placentaires, le largactyl et la monosemi-carbazone d'adrénochrome. Le protocole et les techniques de ces expériences ont été décrits en détail. Nous nous sommes bornés à une étude d'ordre biochimique, et, dans aucun cas, nous n'avons procédé à des examens histologiques relatifs aux variations du taux des éosinophiles sanguins. En effet, nous avons admis à la suite des nombreux résultats publiés antérieurement, que l'injection de l'une des substances énumérées ci-dessus a pour effet constant de provoquer une éosinopénie marquée. La question qui se pose est donc de savoir si l'on est en droit de déclarer que des agents de structure chimique aussi diverse doivent ou non être considérés comme possédant une action comparable à celle de la corticotrophine. Déjà, dans notre introduction, nous avons montré que l'éosinopénie ne doit pas être considérée comme une réaction physiologique spécifique. Il est certain, qu'à bien des égards, l'augmentation du taux des 17 cétostéroïdes sanguins présente un caractère susceptible de traduire beaucoup plus spécifiquement l'excitation de la sécrétion des corticoïdes surrénaliens. Aussi bien, il apparaît très intéressant de pouvoir juger si l'injection d'une substance « stressante » est capable de provoquer, simultanément ou non, une éosinopénie et une hyper-17-céto-stéroïdémie. Nous pensons que dans le cas où l'on observe la simultanéité de ces deux phénomènes, on pourra conclure avec le maximum de garantie que la substance injectée doit être rangée dans le groupe des agents méritant d'être comparés à la corticotrophine. Par contre, l'observation de la dissociation de ces deux effets doit permettre de déclarer que la substance étudiée est dénuée de toute propriété physiologique comparable à celle de l'A.C.T.H.

Notre travail nous permet à cet égard de classer dans deux catégories les substances que nous avons étudiées.

Le premier groupe comprend : l'A.C.T.H., les extraits placentaires et le largactil Rappelons que l'injection de l'une quelconque de ces trois substances est toujours suivie d'une chute du taux des éosinophiles sanguins. Par ailleurs, nous avons montré qu'elle provoquait constamment une élévation importante des 17 cétostéroïdes circulant avec le sang. L'augmentation du taux des 17 cétostéroïdes sanguins observée à la suite de l'injection d'une unité d'A.C.T.H. par kg. de poids corporel chez le chien représente en moyenne 50 p. 100 de la valeur initiale de la cétostéroïdémie. Le taux maximum est obtenu au bout de deux à trois heures trente, après l'injection, selon l'animal. Ces résultats, qui sont en accord avec ceux de C. Dumazert, J. Delphaut et H. Fournier confirment, si besoin en était, l'action cortico-stimulante de la corticotrophine.

On peut en dire autant des extraits placentaires. Ces derniers injectés sous la forme d'extraits déprotéinés à des doses correspondant à environ 2 g. d'organe frais par kg. de poids corporel, provoquent d'une façon constante une augmentation du taux des 17 cétostéroïdes sanguins ; l'augmentation observée représente en moyenne 60 p. 100 de la valeur initiale de la cétostéroïdémie. En première approximation, on peut donc considérer que la dose de 2 g. de placenta humain, frais, correspond sensiblement à une unité de cortico-stimuline.

Les injections de largactil provoquent également une augmentation du taux des 17 cétostéroïdes sanguins.

En résumé, nos résultats montrent que l'A.C.T.H., les extraits placentaires et le largactil possèdent une nette action cortico-stimulante qui se traduit par le fait que l'injection de ces trois substances est capable de provoquer simultanément à la fois une éosinopénie et une hypercétostéroïdémie. Il y a lieu cependant de considérer que seuls les résultats obtenus avec l'A.C.T.H. et les extraits placentaires permettent d'attribuer à ces substances des propriétés physiologiques absolument superposables. Le largactyl se distingue des deux produits précédents par le fait que, dans la majorité des cas, l'augmentation du taux des 17 cétostéroïdes sanguins est suivie d'une chute importante qui amène la céto-

stéroïdémie bien en-dessous de sa valeur initiale. Ce résultat peut apporter une donnée utile relativement à l'interprétation du mode d'action du largactyl. Nous laisserons ce soin aux pharmacologues et nous nous contenterons de considérer que nos résultats mettent en évidence les propriétés stressantes du largactyl, dès l'instant de l'injection, par l'hypercétostéroïdémie constatée, mais qu'ils traduisent également l'action dépressive intense de ce médicament, par l'hypostéroïdémie observée ultérieurement. Il nous reste à examiner le cas de la mono-semi-carbazone d'adrénochrome dont l'injection chez le chien, à des doses relativement élevées, nous a toujours conduit à l'observation d'une diminution de la cétostéroïdémie. Dans ce cas particulier, nous assistons à une dissociation absolue entre l'éosinopénie classique qui se trouve être accompagnée soit de variations insignifiantes, soit même d'une diminution du taux des 17 cétostéroïdes sanguins.

Au cours de notre travail, nous pensons avoir mis en évidence le caractère non spécifique de l'éosinopénie provoquée.

Nos résultats permettent de proposer une technique fidèle pour le contrôle des préparations à base d'A.C.T.H. Ils nous ont permis d'établir que les extraits placentaires convenablement préparés peuvent être utilisés à la place de l'A.C.T.H. dans la pratique du test de THORN.

Nous avons montré l'action particulière du Largactil qui mériterait d'être précisée si on veut l'utiliser dans le même but.

Enfin, l'injection de la mono-semi-carbazone d'adrénochrome, classée parmi les substances capables d'abaisser le taux des éosinophiles, nous est apparue pratiquement sans effet sur la 17-cétostéroïdémie.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARON E. — Présence d'un principe corticotrope dans le placenta humain. - *Bull. Acad. Med.*, 1953, p. 420-422.
2. ASZODI. — La formule sanguine et la Vit. C. - 916, t. *81*, n° 36, 1937.
3. BADINAND, MALLEIN et COTTE. — Isolement à partir du placenta humain d'une substance à activité adréno-corticotrope. - *Revue Lyonnaise de Médecine* n° 6, t. 2, Juin 1953, p. 262 (Société de Biologie 17-11-1952).
4. BABRIDGE G. — In vitro effect of cortisone on mesodermal tissue. - *Arch. Path.*, *51*, 593, 1953.
5. BEALL D. — *Biochem. J.*, 1938, 32, 1957.
6. BEER A. G. — Ueber die nervös humorale. Regulation des Blutes. - *Folia Haematol.*, *66*, 222-298, 1942.
7. BEZON A. — Les variations de l'éosinophilie sanguine dans les épreuves de Thorn. - *Thèse Pharmacie Marseille*, 10 Juillet 1951.
8. BIBILE S. W. — The assay of cortical steroids by the mouse eosinophil test. - *J. Endocrinol.*, *9*, 357-369, 1953.
9. BOSCHI et GASPARI. — *Riv. Ist. Sieroterapica Ital.*, 1951, 26, n° 6, 477-489.
10. BOSCHI et GASPARI. — *Riv. Ist. Sieroterapica Ital.*, 1952, 27, n° 4, 308-312.
11. BROCH O. J. et HAUGEN H. N. — Effects of adrenaline on number of circulating eosinophil cells and on excretion of uric acid and creatinine. - *Acta Endocrinol.*, *5*, 143-150, 1950.
12. DE BEUX et DU BOISTESSELIN. — *Acad. Sc.*, t. *237*, p. 1281-1283.
13. BUSSI L., De MICHELI E. et SALA G. — *Haematologica*, *35*, 649, 1951.
14. BUTENANDT. — Naturwissenschaften, 1929, 77, 879. - *Z. Physiol. Chem.*, 1930, 188, 1.
15. CALLOW N. H. — *Biochem. J.*, 1939, 33, 559.
16. CAPE R. D. T., THOMAS J. W. et PALMER R. A. — The effect of adrenal stéroïds on eosinophils. - *Can. Med. Ass. J.*, *66*, 441-444, 1952.
17. CHEYMOL J., CARIDROIT F. et HENRY R. — VIII° Congrès Chim. Niol., Paris, 1948.
18. CORTES F. M. et MALLEN M. S. — Increased fragility of eosinophilic leucocytes under the influence of cortisone treatment. - *Ann. Allergy*, *11*, 272-274, 1953.

19. DELTOUR et de FOSSEY. — Comparaison expérimentale et clinique entre l'épreuve de Thorn à l'adrénaline et à l'A.C.T.H. - *Ann. Endocrin.*, 11, 341, 1950.

20. DEROBERT. — L'éosinophilie générale et locale. - 1 vol., Doin édit., Paris, 1942.

21. DOISY, VELER et THAYER. — *Ann. J. Physiol.*, 1929, *90*, 329 - *J. Biol. Chem.*, 1930, *86*, 499. - Ibid. 1950, *87*, 357.

22. DUMAZERT C., VALENSI G. — *C. R. Soc. Biol.*, 1952, *146*, 471.

23. DUMAZERT C., DELPHAUT J., FOURNIER H. — *C. R. Soc. Biol.*, 1954, *148*, 2.037.

24. DUNGER. — *Munich Med. Woch.*, 1910, 57, 1942.

25. DURGIN M. L. et MEYER R. K. — Effect of adrenocortical extracts on bone-marrow eosinophils of mice. - *Endocrinology*, *48*, 518-525, 1951.

26. ERIC THING. — *Acta Endocrinol.*, *13*, 343-352, 1953.

27. ESSELIER A. F. — Sur le mécanisme d'action de l'A.C.T.H. sur les éosinophiles - Expériences sur des animaux après blocage sur S.R.E. - *Acta Haematol.*, *8*, 63-73, 1952.

28. FOURNIER H. — Thèse Marseille, 1er Avril 1955.

29. GOLDBERG A. F. et LEPSKAIA M. V. — Les altérations des globules blancs au cours du travail physique et intellectuel. - *J. de Physiol.*, *24*, 715, 1927.

30. GORIS et LIOT. — Pharmacie Galénique.

31. GREEN H. N. et BULLOUCH W. S. — Mitotic activity in the shock state. - *Brit. J. Exp. Path.*, *31*, 175-182, 1950.

32. HARVEN (E. de). — Régulation hormonale de l'éosinophilie sanguine. - Revue d'hématologie, p. 323, 1954.

33. HILLS, FORSHAM, FINCH. — Changes in circulating leukocytes induced by administration of A.C.T.H. in man. - *Blood*, 3, 755, 1948.

34. HITZELBERGER A. et RUPPEL W. — Ist der eosiniphilen test spezifisch ? *Klin. Wschr.*, *30*, 470-472, 1952.

35. HOUSSAY B. A. — *Physiologie humaine*, 1950, 2, 877 (E.M.F.).

36. HUIS L. G. in't VELD. — *Acta endocrinol.*, *16*, 257-262, 1954.

37. JAWORSKI

37. JAOEORSKI Z., KOWALEWSKEI K. — *Acta endocrinol.*, *5*, 157-164, 1950.

38. JAYLE M. F. et LIBERT O. — *Ann. Biol. Chim.*, 1947, 2, 93.

39. JEILER et KNOWLTON. — *J. Clin. Invest.*, 1950, 29, n° 14, 1930.

40. JOSEY A. I., LAWRENCE J. S. — Folia Hematologica, 48, 303, 1952.

41. KUTCHELL - MITCHELL. — *Australian J. Exp. Biol. Méd. Soc.*, 14, 58, 1936.

42. LONG C. N. H., FRY E. G. — *Proc. Soc. Exp. Biol.*, *147*, 586, 1953.
43. LYTT L., GARDNER. — *Bull. John Hopkins Hosp.*, *94*, 105-107, 1954.
44. ROSSI Mariano. - *Riv. Biol.* (Perugia), 45, 503, 11, 1953.
45. MIGEON C. J., JOHN E., PLAGER. — Ibid., 235, 44, discussion 246-260.
46. MORELLI A. et GENAZZANI E. (Naples). — *Arch. Soc. Biol.* (Italie), *36*, 602-610, 1952.
47. MUEHRCKE R. C., LEWIS J. L. et KARK R. M. — The effect of cortisone and heparin on cosinophils in défibrinated human blood. - *Science*, *115*, 377-378, 1952.
48. NEUSER O. — Klinisch - Hämatologische Mitteilungen. - *Wiener Klin. Wschr.*, *3*, 41-46 ; *4*, 64-68, 1892.
49. NORYMBERSKI J. K., STUBBS R. D. — *Lancet*, 264, 1.276, 81, 1953, Sheffield Center Angleterre.
50. OERTEL G. (Konstanz, Allemagne). — *Acta endocrinol.*, *16*, 263-266, 1954.
51. OPSAHL J. C. et LONG C. N. H. — *Yale J. Biol. and Med.*, 1951, 24, n° 3, pp. 199 à 209.
52. PADAWER J. et GORDON A. S. — Eosinopenia and degerating eosinophilic leukocytes in blood. - *Endocrinology*, *51*, 52-58, 1952.
53. PANZENHAGEN H. et SPEIRS R. — Effect of horse-senim adrenal hormones on the number of eosinophils in the blood. - *Blood*, *8*, 536-544, 1953.
54. PERRINI F. et BRUNO L. (Catania, Sicile). — *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.*, *29*, 346-7, 1953.
55. PFEIFFER. — Role of spleen in mecanism of eosinopenia. - *Z. ges. exp. Med.*, *119*, 347, 1952.
56. PILIERO S. J., LANDAU D. et GORDON A. G. — *Science*, *112*, 559-560, 1950.
57. PINCUS G. — Endocrinol., 1943, 32, 176.
58. RANDOLPH-THERON. — Differenciation of eosinophils in comting chanbers with glycol stain. - *J. Lab. Clin. Med.*, Décembre 1949.
59. REINCHSTEIN. — *Helv. Chem. Acta*, 1937, 20, 978.
60. ROBERTS S., SZEGO C. M. — *Endocrinol.*, 1947, *40*, 73.
61. ROBERTSON. — *Nature London*, *161*, 184, 1948.
62. ROMANI J. D. — La migration intracellulaire des éosinophiles au cours du stress - Essai d'interprétation. - *Biol. Méd.*, *42*, 273-292, 1953.
63. RUD F. — *Acta Psychiatr. et Neurol.*, suppl., 40, *1*, 443, 1947.
64. SAMUELS L. T. — Recent progress in hormon. research., 1949, 4, 65.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 11

Relations entre les hormones stéroïdes et l'hypophyse.. 17

Considérations Générales sur le Test de Thorn..... 23

OBJET DU TRAVAIL 37

RECHERCHES PERSONNELLES..... 38

Variations de la 17-Cétostéroïdémie sous l'influence de la corticotrophine hypophysaire..... 41

Variations de la 17-cétostéroïdémie sous l'influence des extraits placentaires..... 44

Variation de la 17-cétostéroïdémie sous l'influence de l'injection de la mono-semi-carbazone d'adrénochrome. 48

CONCLUSIONS..... 51

BIBLIOGRAPHIE 55